



Новый аттенуированный штамм *Mycobacterium tuberculosis* BN. Характеристика, вакцинные свойства

Б. В. НИКОНЕНКО¹, Т. Л. АЖИКИНА², А. С. ГРИГОРОВ², И. А. ЛИНГЕ¹, Н. Н. ЛОГУНОВА¹, С. И. КАЮКОВА¹

¹ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва, РФ

²ФГБНУ «Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН», Москва, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: получить живой аттенуированный штамм и исследовать его свойства путем многократных пересевов вирулентного штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

Материалы и методы. Исходный вирулентный штамм H37Rv последовательно пересевали 70 раз на жидкой среде 7Н9. Изучали генетические свойства нового штамма, степень авирулентности и вакцинные свойства.

Результаты. Микобактерии нового штамма *Mtb*BN утратили вирулентность по отношению к инбредным мышам. С помощью метода полногеномного секвенирования выявлено восемь мутаций: однонуклеотидных вставок и делеций (in/del), различающих штаммы *Mtb*BN и H37Rv. Штамм *Mtb*BN проявил вакцинный потенциал на уровне БЦЖ. Кроме того, в некоторых генетических моделях аттенуированный штамм высокоэффективно защищал инбредных мышей при заражении *Mtb* H37Rv в отличие от БЦЖ.

Ключевые слова: аттенуированный штамм, вирулентный штамм H37Rv, вакцинные свойства

Для цитирования: Никоненко Б. В., Ажикина Т. Л., Григоров А. С., Линге И. А., Логунова Н. Н., Каюкова С. И. Новый аттенуированный штамм *Mycobacterium tuberculosis* BN. Характеристика, вакцинные свойства // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2021. – Т. 99, № 10. – С. 60-65. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-10-60-65>

The New Attenuated Strain of *Mycobacterium Tuberculosis* BN. Characteristics and Vaccine Properties

B. V. NIKONENKO¹, T. L. AZHIKINA², A. S. GRIGOROV², I. A. LINGE¹, N. N. LOGUNOVA¹, S. I. KAYUKOVA¹

¹Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia

²Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia

ABSTRACT

The objective of the study: to obtain a live attenuated strain and investigate its properties by multiple cultures of the virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

Subjects and Methods. The original virulent strain H37Rv was subcultured 70 times in 7Н9 liquid medium. Genetic properties of the new strain, degree of avirulence, and vaccine properties were studied.

Results. Mycobacteria of the new strain *Mtb*BN lost their virulence to inbred mice. Eight mutations were identified by whole genome sequencing: single nucleotide insertions and deletions (in/del) distinguishing the *Mtb*BN and H37Rv strains. The *Mtb*BN strain demonstrated vaccine potential at the BCG level. Additionally, in some genetic models, the attenuated strain was highly effective in protecting inbred mice when infected with *Mtb* H37Rv as opposed to BCG.

Key words: attenuated strain, virulent H37Rv strain, vaccine properties

For citations: Nikonenko B.V., Azhikina T.L., Grigоров A.S., Linge I.A., Logunova N.N., Kayukova S.I. The new attenuated strain of *Mycobacterium tuberculosis* BN. Characteristics and vaccine properties. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2021, Vol. 99, no. 10, P. 60-65. (In Russ.) <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-10-60-65>

Для корреспонденции:

Никоненко Борис Владимирович
E-mail: boris.nikonenko52@gmail.com

Correspondence:

Boris V. Nikonenko
Email: boris.nikonenko52@gmail.com

Создание штаммов *Mycobacterium tuberculosis* с новыми генетическими свойствами является актуальной задачей для исследования механизмов взаимодействия в системе патоген – макроорганизм, факторов вирулентности микобактерии, развития лекарственной устойчивости, выявления структур *M. tuberculosis*, обладающих вакцинными свойствами.

Измененные микобактерии (ослабленные, мутантные, с вставками или делециями тех или иных генов и т. д.) являются инструментом с широкими возможностями. С их помощью возможно исследовать взаимодействие между патогеном и хозяином, механизмы формирования dormant форм ми-

кобактерий при латентном туберкулезе и его реактивации [11, 12], формирования лекарственной устойчивости [6, 8]. Кроме того, такие штаммы могут в перспективе стать основой вакцин-кандидатов.

В настоящее время вакцина Кальметта – Герена (БЦЖ), приготовленная из *Mycobacterium bovis*, остается единственной официально одобренной для вакцинации людей от туберкулеза. Известно, что эффективность противотуберкулезной вакцинации БЦЖ неоднозначна и зависит от ряда факторов, в первую очередь от генетики хозяина [1, 13]. Первая попытка вакцинации человека от туберкулеза вакциной БЦЖ была предпринята в 1921 г. БЦЖ была получена в результате пассирования вирулентных

M. bovis in vitro на картофельной среде (с добавлением бычьей желчи и глицерина для предотвращения скопления бактерий) в течение 13 лет (1908-1921).

Ранее предпринимались неоднократные попытки улучшить существующие субштаммы БЦЖ с помощью генетических манипуляций, которые включают в себя как вставку генов из *M. tuberculosis*, так и нарушение работы генов БЦЖ, потенциально мешающих эффективности вакцинации [2, 3, 7]. Различными исследователями продемонстрировано, что *M. bovis* BCG не имеет множества генов, присутствующих в *M. tuberculosis*. Многие из них не только играют важную роль в вирулентности, но и кодируют иммунодоминантные белки, такие как члены системы секреции ESX-1, отсутствующие во всех штаммах БЦЖ за счет делеции области RD1 [5].

Цель работы: создать новый штамм *M. tuberculosis* с использованием подходов Calmette – Guérin (приготовление BCG из штамма ослабленной живой *Mycobacterium bovis*, выращенной в искусственной среде и утратившей вирулентность для человека).

Материалы и методы

Приготовление нового штамма. Новый штамм приготовлен из вирулентного штамма *M. tuberculosis* H37Rv. Исходно 0,25 мл микобактериальной суспензии (10^4 КОЕ/мл) вносили в 50 мл среды 7Н9, культивировали в шейкере при температуре 37°C в течение 2-3 нед. до появления мутности. После чего снова 0,25 мл микобактериальной суспензии переносили в 50 мл среды 7Н9. Всего таких пассажей 70. Образцы каждого пересева проверяли на контаминацию и хранили при -80°C. Новая культура обозначена как *M. tuberculosis* BN (Boris Nikonenko).

Бактериальную культуру для выделения ДНК *M. tuberculosis* BN выращивали из размороженного образца в 50 мл жидкой среды Дюбо в течение 2 нед. до оптической плотности ~ 0,6. ДНК выделяли способом, приведенным в [4]. Бактерии осаждали центрифугированием (10 мин при 2 000 об/мин). Осадок ресуспендировали в буфере TE и разрушали путем взбивания шариками из диоксида циркония 0,1 мм (BioSpec products, США) в Bead Beater в течение 1,5 мин. Добавляли протеиназу К до конечной концентрации 10 мкг/мл, реакционную смесь инкубировали 3 ч при 55°C. Геномную ДНК экстрагировали фенолом при pH 8,0 и осаждали этанолом.

Секвенирование генома. Полногеномное секвенирование выполняли на NovaSeq 6000 Illumina. Библиотеку с парными концами (2 × 100 п. н.) получали с использованием набора для построения гипербиблиотеки, Кара Biosystems (Roche, США). Чтения были согласованы с эталонным геномом (NCBI Accession AL123456.3) с помощью Snippy (v.4.3) для обнаружения SNP с настройками по умолчанию. Гены PE/PPE исключены из анализа из-за очень высокого сходства последовательностей. Необработанные данные секвенирования можно

найти под номером доступа SRR13628039 в архиве чтения последовательности (NCBI).

ПЦР-проверка SNP. Амплификацию фрагментов ДНК проводили с помощью набора Encyclo polymerase (Евроген, Россия). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) выполняли в реакционном объеме 25 мкл, содержащем геномную ДНК (10 нг), буфер Encyclo, 0,25 мкМ dNTP, 0,5 мкМ каждого из двух праймеров (перечисленных в таблице S1) и 1 ед. ДНК-полимеразы Encyclo. Условия цикла следующие: нагрев при 95°C в течение 3 мин, затем 30 циклов – 95°C в течение 20 с, отжиг при 60°C в течение 30 с; удлинение при 72°C в течение 30 с. Продукты реакции очищали с помощью набора Monarch PCR & DNA Cleanup Kit (NEB, США). Продукты ПЦР секвенировали с помощью капиллярных методов Сэнгера на Applied Biosystems ABI 3900 (Applied Biosystems, США) и сравнивали с геномом H37Rv.

Мыши. Мышей инбредных линий I/StSnEgYCit (I/St), C57BL/6JCit (B6) и BALB/cJYCit (BALB/c) разводили и содержали в обычных, без SPF, условиях питомника животных Центральной НИИ туберкулеза (Москва, Россия) в соответствии с инструкциями Минздрава России № 755. Воду и корм предоставляли без ограничений. Во всех типах экспериментов использовали самок мышей в возрасте от 2 до 2,5 мес. Соответствующих по возрасту интактных мышей использовали в качестве контроля для сравнения фенотипов иммунного ответа с мышами, вакцинированными за 6 нед. до оценки фенотипа.

Вакцинация и заражение *M. tuberculosis* BN, *M. tuberculosis* H37Rv и *M. bovis*. Для заражения мышей микобактериальную суспензию вводили в указанных дозах через латеральную хвостовую вену в 0,25 мл PBS, содержащего 0,05% Tween 80. Для вакцинации микобактериальную суспензию вводили либо подкожно, либо внутривенно. Смертность зараженных мышей отслеживали ежедневно, начиная с 1-й недели после инфицирования. Для оценки количества КОЕ легкие и селезенку мышей гомогенизировали в 2,0 мл стерильного физиологического раствора; 10-кратные серийные разведения высевали на агар Дюбо (Difco) и инкубировали при 37°C в течение 20-22 дней. Для построения гистограмм выживаемости зараженных мышей использовали программу GraphPadPrism. Для обработки полученных количественных данных использовали методы вариационной статистики ANOVA и тест Стьюдента с поправкой Бонферрони.

Результаты

Изменения генома. Чтобы оценить геномные различия, которые, возможно, имели место у микобактерий H37Rv во время нескольких пассажей *in vitro* и были ответственны за потерю вирулентности, мы выполнили полногеномное секвени-

рование (WGS) штамма BN. Полученные считывания сравнивали с исходным штаммом H37Rv (NCBI Accession AL123456.3), поскольку родительский образец H37Rv был получен из Института Па-

стера (Париж) за год до публикации его геномной последовательности [13]. Полный список геномных различий между штаммами BN и H37Rv представлен в таблице.

Таблица. Уникальные in/dels в штамме *M. tuberculosis* BN

Table. Unique in/dels in the *M. tuberculosis* BN strain

Координаты SNP	Локус_TAG	Ген	Изменение оснований	Продукт	Тип	Позиция мутированного остатка AA
100699	<i>Rv0092</i>	<i>ctpA</i>	GC/G	АТФаза СтрА катионного транспортера Р-типа	Сдвиг рамки	40/761
234477	<i>Rv0197</i>		T/G	Возможно оксидоредуктаза	Остановка прироста Tug749	749/762
1010204	<i>Rv0907</i>		C/CG	Консервированный белок	Сдвиг рамки	24/532
1168715	<i>Rv1046c</i>		C/CT	Гипотетический белок	Сдвиг рамки	171/174
1780586	<i>Rv1575</i>		C/CG	Вероятный белок фага PhiRv1	Сдвиг рамки	130/166
3007446	<i>Rv2690c</i>		C/CT	Вероятный консервированный интегральный мембранный белок, богатый аланином, валином и лейцином	Сдвиг рамки	588/657
3257576	<i>Rv2933</i>	<i>ppsC</i>	TC/T	Синтез фенолптиоцерина с поликетидсинтазой I типа PpsC	Сдвиг рамки	632/2188
4095001	<i>Rv3655c</i>		CG/C	Консервированный гипотетический белок	Сдвиг рамки	100/125
4400660	<i>Rv3911</i>	<i>sigM</i>	AC/A	Возможная альтернатива сигма-фактору РНК-полимеразы SigN	Сдвиг рамки	160/222

Восемь однонуклеотидных вставок и делеций (in/del), дифференцирующих штаммы BN и H37Rv в генах *Rv0092*, *Rv0997*, *Rv1046c*, *Rv1575*, *Rv2690c*, *Rv2933*, *Rv3655c* и *Rv3911*, привели к сдвигу рамки считывания в соответствующих белках. Для проверки появления in/del в некоторых генах, которые, как показано ранее, влияют на вирулентность и, следовательно, потенциально важны для ослабления штамма BN, геномные области, содержащие гены белков PpsC, СтрА и *Rv2690c*, были амплифицированы с помощью ПЦР и проанализированы с помощью метода секвенирования по Сэнгеру, которое подтвердило все три мутации (табл.).

Для проверки безопасности (нетоксичности) штамма мышам высокочувствительной линии I/St, мышам с промежуточной восприимчивостью линии BALB/c и резистентным мышам линии C57BL/6 ($n = 5$ в каждой группе) внутривенно вводили по 10^6 КОЕ БЦЖ и *M. tuberculosis* BN. Мышей наблюдали в течение полутора лет. Все мыши прожили этот срок, за исключением одной особи линии C57BL/6, получившей БЦЖ, которая погибла через 8 мес. наблюдения. Таким образом, штамм *M. tuberculosis* BN не обладает вирулентностью в отношении всех использованных линий мышей. Кроме того, изучены гистологические образцы легочной ткани мышей линий I/St и C57BL/6 через 300 дней после внутривенного введения БЦЖ и *M. tuberculosis* BN (рис. 1).

Остаточная вирулентность. Для изучения микобактериальной нагрузки в легких и селезенках мышей линий I/St и C57BL/6 животным вводили внутривенно по 10^6 КОЕ БЦЖ и *M. tuberculosis* BN. Через 300 дней органы извлекали и определяли количество КОЕ.

Легкие мышей линии B6 оказались практически свободными от БЦЖ и BN (< 10 КОЕ/орган), тогда как у восприимчивых к туберкулезу мышей линии I/St наличие микобактерий в легких было очевидным через 10 мес. после инъекции и уровень содержания был значительно выше для штамма BN. Мыши линии B6 лучше контролировали персистенцию микобактерий BN в селезенке по сравнению с БЦЖ, и оба штамма аттенуированных микобактерий лучше выживали у чувствительных к туберкулезу мышей линии I/St (рис. 2, 3).

Вакцинные свойства *M. tuberculosis* BN

Мышей линии BALB/c вакцинировали подкожным введением 10^6 КОЕ БЦЖ или *M. tuberculosis* BN. Через 6 нед. заражали внутривенным введением 10^6 КОЕ *M. tuberculosis* H37Rv. В результате оба штамма продемонстрировали одинаковый уровень протекции. Среднее время выживаемости контрольных мышей составило 133 ± 12 дней, вакцинированных БЦЖ – 244 ± 33 дня, штаммом BN – 244 ± 33 дня ($p = 0,002$). Аналогичные результаты с тенденцией большей протективной способности штамма BN получены при внутривенном введении вакцин (рис. 4, 5).

Среднее время выживаемости контрольных мышей составило $116,0 \pm 32,09$ дня, вакцинированных БЦЖ – 184 ± 53 дня, штаммом BN – 250 ± 63 дня ($p = 0,1127$).

Ранее было показано, что вакцина БЦЖ не защищает мышей линии CBA/N (xid-мутация) от вирулентной инфекции H37Rv, в то время как защищает мышей линии CBA [9, 10]. Мы показали, что вакцинация мышей линии CBA/N штаммом *Mtb*BN существенно продлевает выживаемость этих животных, тогда как вакцинация БЦЖ оставляет их выживаемость на уровне контроля.

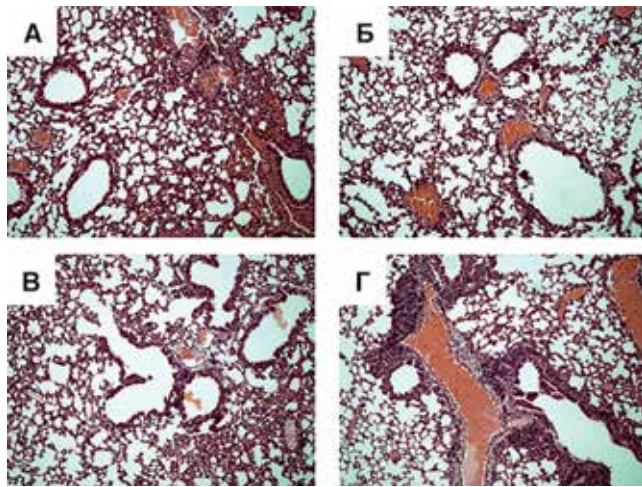


Рис. 1 (А-Г). Легочная патология мышей линий I/St и C57BL/6 через 300 дней после внутривенного введения БЦЖ или MtbBN

А – легкие мышей линии C57BL/6 через 300 дней после введения БЦЖ. Перибронхиальная инфильтрация; Б – легкие мышей линии C57BL/6 через 300 дней после введения MtbBN. Отсутствие инфильтративных изменений; В – легкие мышей линии I/St через 300 дней после введения БЦЖ. Единичные участки перибронхиальной инфильтрации; Г – легкие мышей линии I/St через 300 дней после введения MtbBN. Участки периваскулярной и перибронхиальной инфильтрации

Fig. 1 (A-G). Pulmonary pathology of the mice of I/St and C57BL/6 lines in 300 days after intravenous BCG or MtbBN administration

А – lungs of C57BL/6 mice in 300 days after BCG administration. Peribronchovascular infiltration; Б – lungs of C57BL/6 mice in 300 days after MtbBN injection. No infiltrative changes; В – lungs of I/St mice in 300 days after BCG administration. Single areas of peribronchovascular infiltration; Г – lungs of I/St mice in 300 days after MtbBN administration. Areas of perivascular and peribronchovascular infiltration

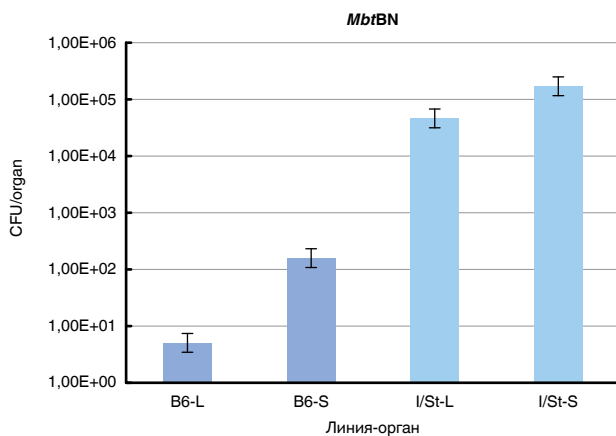


Рис. 2. Микобактериальная нагрузка (КОЕ) MtbBN в органах мышей линий I/St и C57BL/6 через 300 дней после внутривенного введения 10^6 КОЕ

Fig. 2. The mycobacterial load (CFU) of MtbBN in organs of I/St and C57BL/6 mice in 300 days after intravenous administration of 10^6 CFU

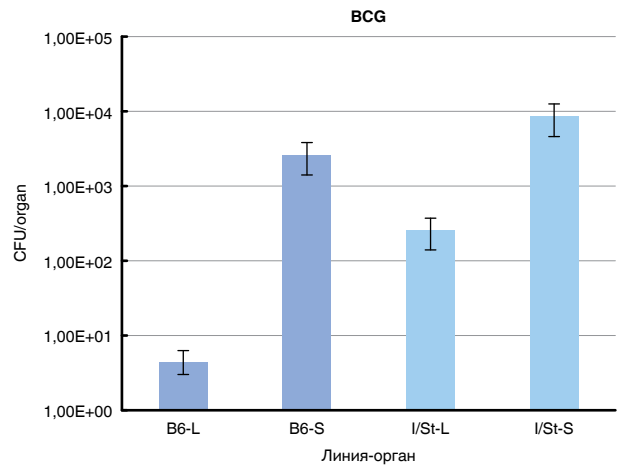


Рис. 3. Микобактериальная нагрузка (КОЕ) БЦЖ в органах мышей линий I/St и C57BL/6 через 300 дней после внутривенного введения 10^6 КОЕ

Fig. 3. The mycobacterial load (CFU) of BCG in organs of I/St and C57BL/6 mice in 300 days after intravenous administration of 10^6 CFU

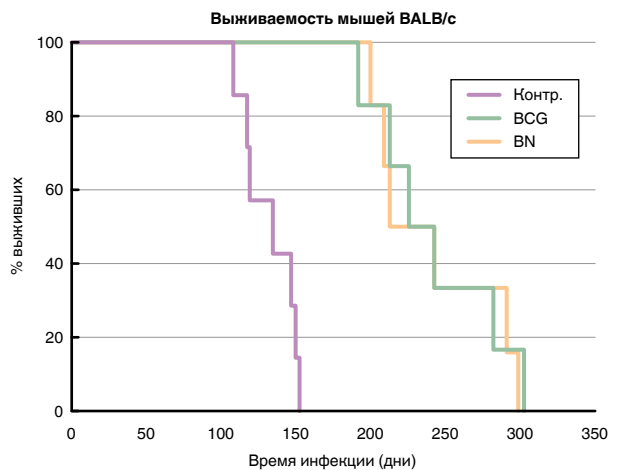


Рис. 4. Выживаемость мышей линии BALB/c, вакцинированных подкожно БЦЖ и MtbBN, зараженных внутривенно Mycobacterium tuberculosis H37Rv

Fig. 4. The survival rate of BALB/c mice vaccinated subcutaneously with BCG and MtbBN and intravenously infected with Mycobacterium tuberculosis H37Rv

Среднее время выживаемости контрольных мышей $115,8 \pm 22,9$ дня, вакцинированных БЦЖ – $112,4 \pm 22,9$ дня, штаммом MtbBN – 288 ± 35 дней ($p = 0,0001$) (рис. 6).

Таким образом, был создан новый аттенуированный штамм микобактерий туберкулеза – MtbBN, непатогенный в отношении мышей, обладающий генетическими свойствами, отличными от БЦЖ и исходного штамма H37Rv. MtbBN обладает вакцинным потенциалом, сравнимым с БЦЖ, и обусловлен генетическими структурами, отличными от таковых у БЦЖ.

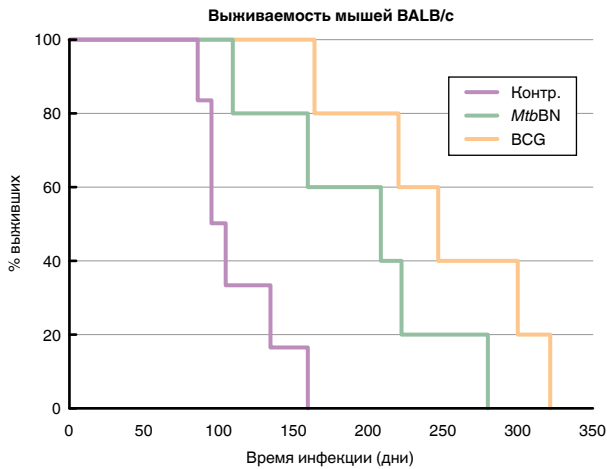


Рис. 5. Выживаемость мышей линии BALB/c, вакцинированных внутривенно БЦЖ и MtbBN, зараженных внутривенно *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Fig. 5. The survival rate of BALB/c mice vaccinated intravenously with BCG and MtbBN and intravenously infected with *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

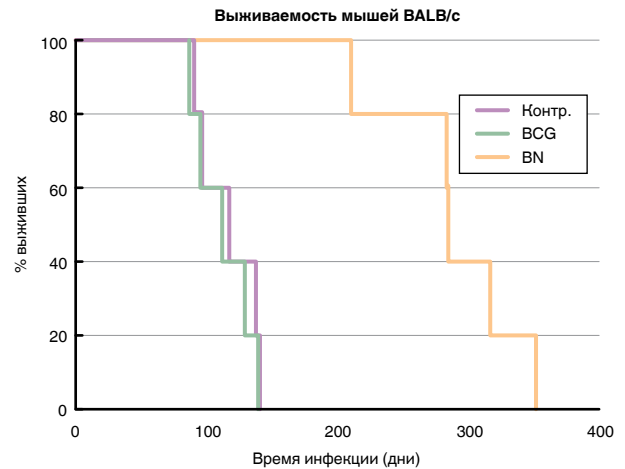


Рис. 6. Выживаемость мышей CBA/N, вакцинированных подкожно БЦЖ и MtbBN, зараженных внутривенно *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Fig. 6. The survival rate of CBA/N mice vaccinated subcutaneously with BCG and MtbBN and intravenously infected with *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никоненко Б. В., Логунова Н. Н., Стержанова Н. В., Каюкова С. И., Апт А. С. Эффективность вакцинации БЦЖ в зависимости от генетики хозяина // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. - 2021. - Т. 171, № 4. - С. 453-457. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-4-453-457.
2. Ahn S., Tran V., Leung A., Ng M., Ming Li M., Liu J. Recombinant BCG overexpressing phoP-phoR confers enhanced protection against tuberculosis // *Mol. Ther.* - 2018. - Vol. 26, № 12. - P. 2863-2874. doi: 10.1016/j.yththe.2018.08.023.
3. Andersen P., Kaufmann S. H. Novel vaccination strategies against tuberculosis // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* - 2014. - № 4. - a018523.
4. Belisle J. T., Mahaffey S. B., Hill P. J. Isolation of mycobacterium species genomic DNA. In *Mycobacteria protocols* (pp. 1-12). - 2009. Humana Press, Totowa, NJ.
5. Brosch R., Gordon S. V., Garnier T. et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007; 104(13):5596-601. doi: 10.1073/pnas.0700869104.015; 5:15443. doi: 10.1038/srep15443.
6. Campodónico V. L., Rifat D., Chuang Yu.-M., Thomas R. Ioerger T. R., Karakousis P. C. Altered *Mycobacterium tuberculosis* cell wall metabolism and physiology associated with RpoB mutation H526D // *Front. Microbiol.* - 2018. - Vol. 9. - P. 494. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00494>.
7. Holt D. F., Blazevic A., Abate G., Hanekom W. A., Kaplan G., Soler J. H., Weichold F., Geiter L., Sadoff J. C., Horwitz M. A. A new recombinant bacille Calmette-Guérin vaccine safely induces significantly enhanced tuberculosis-specific immunity in human volunteers // *J. Infect. Dis.* - 2008. - № 198. - P. 1491-1501.
8. Karakousis P. C., Williams E. P., Bishai W. R. Altered expression of isoniazid-regulated genes in drug-treated dormant *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Antimicrob. Chemother.* - 2008. - Vol. 61, № 2. - P. 323-331. DOI: [org/10.1093/jac/dkm485](https://doi.org/10.1093/jac/dkm485).
9. Kondratieva T. K., Rubakova E. I., Linge I. A., Evstifeev B. V., Majorov K. D., Apt A. S. B cells delay neutrophil migration toward the site of stimulus: tardiness critical for effective bacillus Calmette-Guérin vaccination against tuberculosis infection in mice // *J. Immunol.* - 2010. - Vol. 184, № 3. - P. 1227-1234. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902011>.

REFERENCES

1. Nikonenko B.V., Logunova N.N., Sterzhanova N.V., Kayukova S.I., Apt A.S. BCG vaccination efficacy depending on the host genetics. *Bull. Eksp. Biol. Med.*, 2021, vol. 171, no. 4, pp. 453-457. (In Russ.) doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-4-453-457.
2. Ahn S., Tran V., Leung A., Ng M., Ming Li M., Liu J. Recombinant BCG overexpressing phoP-phoR confers enhanced protection against tuberculosis. *Mol. Ther.*, 2018, vol. 26, no. 12, pp. 2863-2874. doi: 10.1016/j.yththe.2018.08.023.
3. Andersen P., Kaufmann S.H. Novel vaccination strategies against tuberculosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2014, no. 4, pp. a018523.
4. Belisle J.T., Mahaffey S.B., Hill P.J. Isolation of mycobacterium species genomic DNA. In *Mycobacteria protocols*. pp. 1-12, 2009. Humana Press, Totowa, NJ.
5. Brosch R., Gordon S.V., Garnier T. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, 104(13), 5596-601. doi: 10.1073/pnas.0700869104.015; 5:15443. doi: 10.1038/srep15443.
6. Campodónico V.L., Rifat D., Chuang Yu.-M., Thomas R. Ioerger T.R., Karakousis P.C. Altered *Mycobacterium tuberculosis* cell wall metabolism and physiology associated with RpoB mutation H526D. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9, pp. 494. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00494>.
7. Holt D.F., Blazevic A., Abate G., Hanekom W.A., Kaplan G., Soler J.H., Weichold F., Geiter L., Sadoff J.C., Horwitz M.A. A new recombinant bacille Calmette-Guérin vaccine safely induces significantly enhanced tuberculosis-specific immunity in human volunteers. *J. Infect. Dis.*, 2008, no. 198, pp. 1491-1501.
8. Karakousis P.C., Williams E.P., Bishai W.R. Altered expression of isoniazid-regulated genes in drug-treated dormant *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, vol. 61, no. 2, pp. 323-331. doi: [org/10.1093/jac/dkm485](https://doi.org/10.1093/jac/dkm485).
9. Kondratieva T.K., Rubakova E.I., Linge I.A., Evstifeev B.V., Majorov K.D., Apt A.S. B cells delay neutrophil migration toward the site of stimulus: tardiness critical for effective bacillus Calmette-Guérin vaccination against tuberculosis infection in mice. *J. Immunol.*, 2010, vol. 184, no. 3, pp. 1227-1234. doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902011>.

10. Nikonenko B. V., Apt A. S., Mezhlumova M. B., Avdienko V. G., Yeremeev V. V., Moroz A. M. Influence of the mouse Bcg, Tbc-1 and xid genes on resistance and immune responses to tuberculosis infection and efficacy of bacille Calmette-Guérin (BCG) vaccination // *Clin. Exp. Immunol.* - 1996. - Vol. 104, № 1. - P. 37-43.
11. Sambandamurthy V. K., Wang X., Chen B., Russell R. G., Derrick S., Collins F. M., Morris S. L., Jacobs W. R. Jr. A pantothenate auxotroph of *Mycobacterium tuberculosis* is highly attenuated and protects mice against tuberculosis // *Nature Med.* - 2002. - Vol. 8. - P. 1171-1174.
12. Shleeva M. O., Kudyakina Yu. K., Vostroknutova G. M., Suzina N. E., Mulyukin A. M., Kaprelyants A. S. Dormant ovoid cells of *Mycobacterium tuberculosis* are formed in response to gradual external acidification // *Tuberculosis.* - 2011. - Vol. 91, № 2. - P. 146-154.
13. Smith C. M., Proulx M. K., Olive A. J., Laddy D., Mishra B. B., Moss C., Gutierrez N. M., Bellerose M. M., Barreira-Silva P., Phuah J. Y., Baker R. E., Behar S. M., Kornfeld H., Evans T. G., Beamer G., Sasseti C. M. Tuberculosis Susceptibility and Vaccine Protection Are Independently Controlled by Host Genotype. *mBio.* - 2016. - Vol. 20, № 7 (5). - P. e01516-16. doi: 10.1128/mBio.01516-16.
10. Nikonenko B.V., Apt A.S., Mezhlumova M.B., Avdienko V.G., Yeremeev V.V., Moroz A.M. Influence of the mouse Bcg, Tbc-1 and xid genes on resistance and immune responses to tuberculosis infection and efficacy of bacille Calmette-Guérin (BCG) vaccination. *Clin. Exp. Immunol.*, 1996, vol. 104, no. 1, pp. 37-43.
11. Sambandamurthy V.K., Wang X., Chen B., Russell R.G., Derrick S., Collins F.M., Morris S.L., Jacobs W.R.Jr. A pantothenate auxotroph of *Mycobacterium tuberculosis* is highly attenuated and protects mice against tuberculosis. *Nature Med.*, 2002, vol. 8, pp. 1171-1174.
12. Shleeva M.O., Kudyakina Yu.K., Vostroknutova G.M., Suzina N.E., Mulyukin A.M., Kaprelyants A.S. Dormant ovoid cells of *Mycobacterium tuberculosis* are formed in response to gradual external acidification. *Tuberculosis*, 2011, vol. 91, no. 2, pp. 146-154.
13. Smith C.M., Proulx M.K., Olive A.J., Laddy D., Mishra B.B., Moss C., Gutierrez N.M., Bellerose M.M., Barreira-Silva P., Phuah J.Y., Baker R.E., Behar S.M., Kornfeld H., Evans T.G., Beamer G., Sasseti C.M. Tuberculosis susceptibility and vaccine protection are independently controlled by host genotype. *mBio*, 2016, vol. 20, no. 7 (5), pp. e01516-16. doi: 10.1128/mBio.01516-16.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза»,
107564, Москва, Яузская аллея, д. 2.

Никоненко Борис Владимирович

доктор медицинских наук,
ведущий научный сотрудник отдела иммунологии.
E-mail: boris.nikonenko52@gmail.com

Линге Ирина Андреевна

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник отдела иммунологии.
E-mail: iralinge@gmail.com

Логунова Надежда Николаевна

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник отдела иммунологии.
E-mail: nadezda2004@yahoo.com

Каюкова Светлана Ивановна

доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник,
заведующая лабораторией микробиома отдела
иммунологии.
E-mail: kajukovalnp@gmail.com

ФГБУН «Институт биоорганической химии
им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН»,
117871, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10.

Ажикина Татьяна Леодоровна

доктор биологических наук,
заведующая лабораторией регуляторной
транскриптомики.
E-mail: tatazhik@ibch.ru

Григорьев Артем Сергеевич

научный сотрудник лаборатории регуляторной
транскриптомики.
E-mail: artgrigorov@gmail.com

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Central Tuberculosis Research Institute,
2, Yauzskaya Alleya, Moscow, 107564.

Boris V. Nikonenko

Doctor of Medical Sciences,
Senior Researcher of Immunology Department.
Email: boris.nikonenko52@gmail.com

Irina A. Linge

Candidate of Biological Sciences,
Senior Researcher of Immunology Department.
Email: iralinge@gmail.com

Nadezhda N. Logunova

Candidate of Biological Sciences,
Senior Researcher of Immunology Department.
Email: nadezda2004@yahoo.com

Sveltana I. Kayukova

Doctor of Medical Sciences,
Leading Researcher,
Head of Microbiome Laboratory of Immunology Department.
Email: kajukovalnp@gmail.com

Shemyakin and Ovchinnikov Institute
of Bioorganic Chemistry,
16/ 10, Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117871.

Tatyana L. Azhikina

Doctor of Biological Sciences,
Head of Laboratory
of Regulatory Transcriptomics.
Email: tatazhik@ibch.ru

Artem S. Grigorov

Researcher of Laboratory
of Regulatory Transcriptomics.
Email: artgrigorov@gmail.com